

Polyelectrolyte Multilayer-Stabilized Paclitaxel Nanocrystals

Doctoral Thesis**Author(s):**

Polomska, Anna Karolina

Publication date:

2016

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010792785>

Rights / license:

In Copyright - Non-Commercial Use Permitted

Polyelectrolyte Multilayer-Stabilized Paclitaxel Nanocrystals

A thesis submitted to attain the degree of

DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZÜRICH

(Dr. sc. ETH Zürich)

presented by

ANNA KAROLINA POLOMSKA

Magister in Chemistry, Jagiellonian University, Cracow

born on 18.05.1987

citizen of Poland

accepted on the recommendation of

Examiner: Prof. Dr. Jean-Christophe Leroux

Co-Examiner: Prof. Dr. Bruno Alfred Gander

2016

ABSTRACT

Side effects related to exposure of healthy tissues to a cytotoxic drug represent one of the major limitations of conventional systemic chemotherapy. Another important obstacle emerges from the poor aqueous solubility of many potent chemotherapeutics, which often imposes the use of large doses of potentially harmful solubilizing excipients. Nanotechnology could help solve these problems, due to the possibility to formulate hydrophobic drugs in well tolerated nanocarriers, and because of the ability of a drug delivery nanosystem to accumulate locally in tumor tissue *via* the enhanced permeability and retention (EPR) effect.

Especially, drug nanocrystals (NCs), which are colloidal dispersions composed almost entirely of a hydrophobic drug with minimum content of non-drug excipients, can locally deliver high doses of a therapeutic. However, achieving tumor accumulation with intravenously injected NCs is challenging because of their uncontrolled dissolution characteristics or rapid uptake by the mononuclear phagocyte system (MPS). **Chapter 1** shows how the limitations of the conventional chemotherapy can be overcome with nanomedicines and specifically, provides an insight into characteristics and challenges related to drug NCs.

In this work, paclitaxel (PTX) was used as a model hydrophobic drug to produce NCs of ~200 nm. To address the issues related to rapid dissolution and the MPS uptake of the NCs, a layer-by-layer (LbL) approach was adopted to coat PTX NCs with alternating layers of oppositely-charged polyelectrolytes, using a PEGylated copolymer as the top layer. LbL coating is a simple and versatile technique based on the sequential deposition of molecular species on planar surfaces or colloidal templates. Its relevance in drug delivery primarily emerges from its versatility to control the release rate of the cargo encapsulated within the colloidal core. **Chapter 2** presents the insight into the LbL technique, specifically in relation to solid drug cores, including drug NCs.

Chapter 3 reports the fabrication and physicochemical characteristics of the LbL-coated PTX NCs. It was shown that the LbL coating composed of six layers of poly(L-arginine) and poly(styrene sulfonate) with poly(L-lysine)-*graft*-PEG as topmost layer successfully slowed down dissolution in comparison to the non-coated NCs and to Abraxane[®] (an approved PTX nanoformulation) and provided colloidal stability in physiologically-relevant media. In **Chapter 4**, the formulation's performance in the biological environment (cells and tumor-bearing mice) was assessed. The presence of coating had no intrinsic effect on cell viability at the concentrations tested. Nevertheless, the pharmacokinetic and biodistribution profiles indicated that the NCs were rapidly cleared from the bloodstream due to their deposition in MPS organs (*i.e.* liver and spleen). This might be a consequence of the shedding of the top layer

(PEGylated polyelectrolyte) from the NCs' surface. Overall, this work questions whether approaches that rely solely on electrostatic interactions for retaining coatings on the surfaces of NCs are appropriate for *in vivo* use. **Chapter 5** provides a discussion on the major achievements of this thesis and an outlook, including the potential solutions for increasing the retention of the PEGylated polyelectrolytes on the NCs' surface.

ZUSAMMENFASSUNG

Eine der grössten Nachteile der konventionellen systemischen Chemotherapie sind die Nebenwirkungen der zytotoxischen Medikamente auf das gesunde Gewebe. Zudem erfordert die schlechte Wasserlöslichkeit vieler potenter Chemotherapeutika den Einsatz erheblicher Mengen von potentiell schädlichen, lösungsvermittelnden Hilfsstoffen. Nanotechnologie kann helfen, diese Probleme zu lösen. Dank Nanotechnologie können hydrophobe Arzneistoffe mit gut verträglichen Nanoträgern formuliert werden, die, dank ihrer geringen Grösse und den daraus sich ergebenden Effekten der erhöhten Permeabilität und erhöhten Verweildauer (enhanced permeability and retention, EPR), lokal in Tumorgewebe akkumulieren.

Eine besonders interessante nanopartikuläre Arzneiform sind die sogenannten Arzneistoff-Nanokristalle (NK). Dies sind kolloidale Dispersionen, die vorwiegend aus einem hydrophoben Arzneistoff und einem minimalen Anteil an pharmazeutischen Hilfsstoffen bestehen und lokal hohe Dosen eines Therapeutikums freisetzen können. Die Anreicherung von intravenös injizierten NK in Tumorgewebe bleibt jedoch eine grosse Herausforderung, da NK, je nach Umgebung, sich unterschiedlich schnell auflösen oder vom mononukleären phagozytischen System (MPS) aufgenommen werden können. **Kapitel 1** beschreibt wie die Grenzen der konventionellen Chemotherapie mittels Nanomedizin bewältigt werden können und vermittelt einen Einblick in die Eigenschaften und Herausforderungen von Arzneistoff-NK.

In dieser Arbeit stellten wir mit dem hydrophoben Arzneistoff Paclitaxel (PTX) NK von ~200 nm her. Die Probleme der unkontrollierten, schnellen Auflösung der NK und deren Aufnahme durch das MPS wurden mittels Mehrschichtüberzügen *via* sogenanntem “Layer-by-Layer“ (LbL)-Verfahren angegangen. Dabei wurden PTX-NK mit alternierenden Schichten von entgegengesetzt geladenen Polyelektrolyten ummantelt und mit einer letzten, äussersten Schicht eines PEGylierten Copolymers versehen. Das LbL-Verfahren ist eine einfache und vielseitige Technik, mit der entgegengesetzt geladene Moleküle sequentiell auf eine ebene Oberfläche oder auf kolloidale Partikel aufgebracht werden. Das LbL-Verfahren bietet vielseitige Möglichkeiten, die Freisetzungsgeschwindigkeit von eingekapseltem Arzneistoff zu kontrollieren. **Kapitel 2** vermittelt einen Einblick in das LbL-Verfahren, insbesondere zur Umhüllung von festen Arzneistoffen einschliesslich Arzneistoff-NK.

Kapitel 3 beschreibt die Herstellung und physikochemischen Eigenschaften der LbL-beschichteten PTX-NK. Es zeigte sich, dass die Umhüllung von PTX-NK mit sechs Schichten von Poly(L-arginin) und Poly(styrolsulfonat) sowie von Poly(L-lysin)-*graft*-PEG als äusserste Schicht die Auflösung von PTX-NK im Vergleich sowohl zu nicht beschichteten PTX-NK als auch zu Abraxane® (eine zugelassene PTX-Nanoformulierung) erfolgreich verlangsamte.

Zudem war die kolloidale Stabilität in physiologisch relevanten Medien gewährleistet. In **Kapitel 4** wurde die Wirkung der Formulierung im biologischen Kontext (Zellen und Mäuse mit Tumoren) evaluiert. Die Polymerumhüllungen der PTX-NK zeigten bei den getesteten Konzentrationen keinen intrinsischen Effekt auf die Zellviabilität. Nach intravenöser Injektion in Mäuse wurden die PTX-NK jedoch schnell aus dem Blutkreislauf eliminiert und in die MPS Organe (z.B. Leber und Milz) verteilt. Der Grund für diese schnelle Elimination könnte im Wegfall der äussersten Schicht (PEGylierte Polyelektrolyten) der NK liegen. Insgesamt stellt diese Arbeit in Frage, ob elektrostatischen Wechselwirkungen zur Umhüllung von Arzneistoff-NK genügend Stabilität für *in vivo* Anwendungen vermitteln. **Kapitel 5** diskutiert die wichtigsten Ergebnisse der Doktorarbeit und erörtert potentielle Lösungen zur verbesserten Retention von PEGylierten Polyelektrolyten auf NK-Oberflächen.